



LINEA LIQUIDA

Creatinina

enzimática AA

Método enzimático para la determinación de creatinina en suero, plasma u orina

SIGNIFICACION CLINICA

La creatinina, compuesto sumamente difusible, se elimina del organismo casi exclusivamente por filtración renal. Su determinación en suero, así como el clearance de creatinina endógena constituyen parámetros importantes para el diagnóstico de diversas afecciones renales.

FUNDAMENTOS DEL METODO

Basado en el siguiente esquema de reacción:

$$\text{creatinina} + H_2O \xrightarrow{\text{creatininasa}} \text{creatina}$$

$$\text{creatina} + H_2O \xrightarrow{\text{creatinasa}} \text{sarcosina} + \text{urea}$$

$$\text{sarcosina} + H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{sarcosina oxidasa}} \text{glicina} + HCHO + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-AF} + \text{TOOS} \xrightarrow{\text{peroxidasa}} \text{quinonimina coloreada}$$

La intensidad del color de la quinonimina formada es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución conteniendo creatinasa 36 kU/l, sarcosina oxidasa 11 kU/l, catalasa 300 kU/l, ascorbato oxidasa 3 kU/l y buffer Goods 20 mmol/l pH 8,2 con N-etil-N-2-hidroxi-3-sulfopropil-3-metilanilina (TOOS) 1 mmol/l.
B. Reactivo B: solución conteniendo 4-aminofenazona (4-AF) 4 mmol/l, creatininasa 370 kU/l, peroxidasa 15 kU/l, azida de sodio 0,8 g/l y buffer Goods 20 mmol/l pH 8,0.
S. Standard*: solución de creatinina 20 mg/l.

REACTIVOS NO PROVISTOS

- **Calibrador A plus** de Wiener lab.
- Agua desmineralizada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de análisis clínicos.
Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No mantener a temperaturas elevadas durante lapsos prolongados.

MUESTRA

Suero, plasma u orina
a) Recolección: obtener suero o plasma de la manera usual. Puede emplearse también orina de 2 horas o de 24 horas. Su recolección debe efectuarse en un recipiente perfectamente limpio que se mantendrá en el refrigerador (2-10°C) durante el tiempo de la recolección. Medir la diuresis, tomar una alícuota y efectuar una dilución 1:50 de la misma. En caso de que la diuresis sea de 2 horas, multiplicar el volumen medido por 12 para calcular la cantidad de creatinina eliminada durante 24 horas.
b) Aditivos: en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda únicamente el uso de heparina como anticoagulante para su obtención.
c) Sustancias interferentes conocidas: no se observan interferencias por ácido ascórbico hasta 100 mg/dl, hemoglobina hasta 400 mg/dl (4 g/l), bilirrubina hasta 28 mg/dl (280 mg/l), ni triglicéridos hasta 1250 mg/dl (12,5 g/l).
Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.
d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero o plasma debe ser separado de los glóbulos rojos, antes de las dos horas de la extracción. Si se conserva en la oscuridad a 2-10°C, la estabilidad es de 3 días.
La orina puede mantenerse hasta 4 días en refrigerador (2-10°C) sin agregado de conservantes.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Cubetas espectrofotométricas.
- Baño de agua a 37°C.
- Cronómetro.

CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 546 nm
- Temperatura de reacción: 37°C

PROCEDIMIENTO

Antes de agregar la muestra, llevar el aparato a cero con agua destilada. En tres cubetas espectrofotométricas marcadas B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

* *No provisto en todas las presentaciones*

	B	S	D
Muestra	-	-	0,07 ml
Standard	-	0,07 ml	-
Agua desmineralizada	0,07 ml	-	-
Reactivo A	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
Mezclar e incubar 5 minutos a 37ºC. Leer la absorbancia a 546 nm (B_1, S_1 y D_1).			
Reactivo B	1,25 ml	1,25 ml	1,25 ml
Mezclar e incubar 5 minutos a 37ºC. Leer la absorbancia a 546 nm (B_2, S_2 y D_2).			

CALCULO DE LOS RESULTADOS

1) Creatinina en suero (mg/l) = $[(D_2-B_2) - (D_1-B_1) \times k] \times f$

$$f = \frac{20 \text{ mg/l}}{(S_2-B_2) - (S_1-B_1) \times k}$$

donde:

$$k = \frac{\text{volumen del Blanco (ml)}}{\text{volumen final (ml)}} = \frac{2{,}57 \text{ ml}}{3{,}82 \text{ ml}} = 0{,}673$$

Significa la compensación por dilución del blanco por agregado del Reactivo B.

Ejemplo:

B_1: 0,123 S_1: 0,145 D_1: 0,164
B_2: 0,137 S_2: 0,365 D_2: 0,412

Standard: 20 mg/l

k = 0,673

$$f = \frac{20 \text{ (mg/l)}}{(0{,}365-0{,}137) - (0{,}145-0{,}123) \times 0{,}673} = \frac{20}{0{,}228-0{,}022 \times 0{,}673} =$$

$$= \frac{20}{0{,}228 - 0{,}015} = \frac{20}{0{,}213} = 93{,}9$$

Creatinina (mg/l) = [(0,412-0,137) - (0,164-0,123) x 0,673] x 93,9 =

= (0,275 - 0,041 x 0,673) x 93,9 = (0,275 - 0,028) x 93,9 =

= 0,247 x 93,9 = 23,19

2) Creatinina en orina (g/24 hs) =

$$= \frac{\text{Creatinina (mg/l)} \times 50 \times D}{1000} = \frac{\text{Creatinina (mg/l)} \times D}{20}$$

donde:
D = volumen de la diuresis expresado en litros/24 hs
50 = factor de dilución
1000 = conversión de mg a gramos

3) Depuración de Creatinina Endógena (D.C.E.):

$$\text{D.C.E. ml/min} = \frac{\text{Creatinina en orina (g/24 hs)}}{\text{Creatinina en suero (mg/l)}} \times 694 \text{ ml/min}$$

donde:

$$694 \text{ ml/min} = \frac{\text{g/24 hs}}{\text{mg/l}} = \frac{1.000 \text{ mg} \times 1.000 \text{ ml}}{1 \text{ mg} \times 1.440 \text{ min}} = \frac{1.000.000 \text{ ml}}{1.440 \text{ min}}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de creatinina, con cada determinación.

VALORES DE REFERENCIA

Los valores esperados de creatinina son los siguientes:

Suero o plasma
Hombre: 7 - 13 mg/l
Mujer: 6 - 11 mg/l

Orina
Hombre: 0,8 - 2,0 g/24 hs
Mujer: 0,6 - 1,8 g/24 hs

Depuración de Creatinina Endógena
Hombre: 94 - 140 ml/min (promedio 125 ml/min)
Mujer: 72 - 110 ml/min

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI

Creatinina (mg/l) x 8,84 = Creatinina (umol/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.

PERFORMANCE

a) Reproducibilidad: procesando sueros de acuerdo al documento EP5A del CLSI se obtuvo lo siguiente:

Precisión intraensayo (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
0,98 mg/dl	± 0,014 mg/dl	1,45 %
3,80 mg/dl	± 0,038 mg/dl	0,99 %

Precisión total (n = 20)

Nivel	D.S.	C.V.
0,98 mg/dl	± 0,019 mg/dl	1,99 %
3,80 mg/dl	± 0,044 mg/dl	1,15 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 170 mg/l (17 mg/dl) de creatinina. Para valores superiores, diluir la muestra 1:2 ó 1:4 con agua destilada y repetir la determinación. Corregir los cálculos multiplicando por el factor de dilución empleado.
c) Sensibilidad analítica: depende del fotómetro empleado y de la longitud de onda. En espectrofotómetros a 546 nm con cubetas de caras paralelas de 1 cm de espesor, para un ΔA de 0,001 el mínimo cambio de concentración detectable será 1,2 mg/l.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS

Para las instrucciones de programación debe consultarse el Manual del Usuario del Analizador en uso.

Para la calibración, debe usarse **Calibrador A plus** de Wiener lab.

PRESENTACION

60 ml: 1 x 40 ml Reactivo A
1 x 20 ml Reactivo B
(Cód. 1260362)

90 ml: 3 x 20 ml Reactivo A
3 x 10 ml Reactivo B
(Cód. 1009612)

BIBLIOGRAFIA

- Fossatti, P.; Prencipe, L.; Berti, G. - Clin. Chem. 29:1494 (1983).
- Curtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Fundamentals of Clin. Chem. 5th Ed.: 422, 2001.
- Burtis, C.A.; Ashwood, E.R. - Tietz Textbook of Clin. Chem. 3rd Ed.:1808, 1996.
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 5th ed., 2000.
- CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute (ex-NCCLS) - Protocols EP 15A, 2001 / EP 17A, 2004.

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.


Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

IVD Uso diagnóstico "in vitro"

Contenido suficiente para <n> ensayos

Fecha de caducidad

Límite de temperatura (conservar a)

No congelar

Riesgo biológico

Volumen después de la reconstitución

Cont. Contenido

LOT Número de lote

Elaborado por:

Xn Nocivo

Corrosivo / Caústico

Xi Irritante

Consultar instrucciones de uso

Calibr. Calibrador

CONTROL Control

CONTROL + Control Positivo

CONTROL − Control Negativo

REF Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com.ar
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Inscripto M.S.
Cert. Nº: 5708/05

Wiener lab.
2000 Rosario - Argentina